

**KELANGSUNGAN HIDUP IKAN MAS (*Cyprinus carpio* L)
YANG DIBERI PAKAN EKSTRAK BAWANG PUTIH (*Allium sativum*)
DAN DI INFEKSI *Aeromonas hydrophila***

Iesje Lukistyowati¹⁾ dan Kurniasih¹⁾

Diterima : 25 Oktober 2011 Disetujui : 30 November 2011

ABSTRACT

The aim of a research were to investigate the effectiveness of garlic extract mixed with feed given 30 days in encharging common carps after challen with against *Aeromonas hydrophila* with density of 10^6 cell/ml. This research conducted by using complete random design with dose addition of garlic extract to feed were control positive, control negative, P1 (2,5%), P2 (5%), and P3 (10%). In order to fine out the active component of garlic extraction methode was adopted using 70% ethanol. The extracted filtrates were separated using the spectrophotometrical chromatography method (GC-MS) and thin-layered chromatography. Identification of the main components found in the ethanol extract of garlic revealed 13 components but the one that served as antimicrobial was $C_6H_{10}S_2$ CAS *disulphide di 2-propenyl* (CAS)/(*Diallyldisulfide*) with and area of 16,95%. Beside the result of thin layered chromatography showed that garlic extact contained sapononin which is harmful to aquatic animals. Percentage of survival rate P3 (10%) after infected after with *Aeromonas hydrophila* was different compare witn control positive. The high survival shown on P3 (10%) concentration with 70%, P1 60%, control negative 60% and P2 30%. Fourteen days after injection the cut cause by *Aeromonas hydrophila* close and the fish recuperated as shown by their lively movement.

Keyword : *Aeromonas hydrophila*, *cyprinus carpio* L, garlic extract, survival rate

PENDAHULUAN

Ikan yang terserang penyakit *Motile Aeromonas Septicemia* (MAS) pertumbuhannya terganggu bahkan dapat menyebabkan kematian, sehingga menimbulkan kerugian yang besar. Penyakit bakterial pada ikan khususnya yang disebabkan oleh *A. hydrophila* mulai dikenal di Indonesia sekitar tahun 1980, bakteri ini menyebabkan wabah penyakit pada ikan karper di Jawa Barat dan berakibat kematian sebanyak 125 ton (Trianto, 1990). Di tahun yang sama kejadian serupa juga terjadi yang dikenal dengan penyakit `Ulcerative disease` atau penyakit borok/penyakit merah yang mengakibatkan kematian sekitar kurang lebih 173 ton jenis ikan mas termasuk didalamnya 30 % ikan-ikan kecil/benih mati disebabkan oleh

bakteri *Aeromonas* sp dan *Pseudomonas* sp, mengakibatkan kerugian sekitar Rp. 126 juta. Penyakit ini dapat menyebabkan sistemik yang menimbulkan kematian ikan yang tinggi, menyerang ikan-ikan budidaya dan dalam waktu singkat menyebar ke daerah lain (Anonim, 1990).

Usaha yang telah dilakukan untuk mengatasi baik pencegahan maupun pengobatan penyakit yang disebabkan bakteri *A. hydrophila* adalah dengan pemberian bahan-bahan kimia maupun pemberian antibiotik sintesis seperti tetracycline. Pemberian bahan kimia ini memang dapat mencegah maupun mengobati penyakit pada ikan bila digunakan dengan dosis yang tepat, akan tetapi bila digunakan tidak terkontrol maka dapat menimbulkan beberapa efek negatif. Residu antibiotik dapat mencemari lingkungan dan juga dapat dijumpai di tubuh ikan, sehingga ikan tidak aman untuk dikonsumsi oleh manusia.

Bawang putih telah banyak digunakan untuk meningkatkan stamina tubuh dan telah banyak makanan suplemen yang dibuat dari bawang putih ataupun minyak bawang putih (Watanabe, 2001). Dari hasil penelitian menunjukkan pemberian bawang putih dapat merangsang sel imun seperti makrofak dan sel T untuk melawan bakteri dan invensi virus (Anonim, 1989, Salman, dkk.,1999). Efek yang sama juga dijumpai pada ikan lele yang dilakukan oleh Maryono, dkk. (1999), sintasan benih ikan lele dumbo ukuran 2 gram yang telah dilukai di bagian punggungnya, kemudian diinfeksi secara rendaman dengan bakteri *A. hydrophila* (kepadatan bakteri 10^9 sel/ml), setelah menampakkan gejala terinfeksi direndam dalam perasan bawang putih konsentrasi (sekitar 11350 ppm, selama 15 menit). Sintasan ikan perlakuan lebih tinggi dibandingkan dengan yang tidak diberi perlakuan (sintasan kontrol 4% dan sintasan ikan perlakuan mencapai lebih dari 50%).

Kemampuan bawang putih dalam meningkatkan daya tahan tubuh dan menyembuhkan berbagai jenis penyakit pada manusia dan hewan vertebrata telah banyak diteliti, diduga karena mengandung berbagai macam zat yang mempunyai daya antibakteria dan antiseptik, diantaranya adalah zat alisin dan scordinin (Wibowo, 1989; Challem, 1995). Disamping *alisin*, *scordinin*, bawang putih mengandung *ajoene* serta senyawa *flavonoid* dimana senyawa senyawa tersebut bersifat antioksidan (Lamm dan Riggs, 2001). Bawang putih telah diyakini dapat meningkatkan ketahanan tubuh dan mengobati berbagai penyakit bagi manusia maupun hewan-hewan lainnya, sedangkan penelitian bawang putih yang diberikan pada hewan air khususnya ikan masih sedikit, dan belum banyak dilakukan, untuk itu perlu dilakukan guna mengetahui dosis yang efektif untuk pencegahan khususnya pada ikan mas.

METODOLOGI PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimen yaitu mengidentifikasi ekstrak etanol bawang putih dengan Gas Kromatografi Mass - Spektrofotometri (GC-MS) dan Kromatografi Lapis tipis (KLT), kemudian ekstrak bawang putih tersebut disalutkan pada pakan komersial produksi PT. Central Panganpertiwi 781-2 sesuai dengan dosis dan diberikan pada ikan mas (*Cyprinus carpio* L) selama 30 hari kemudian diinfeksi dengan *A. hydrophila*.

Dosis pakan yang digunakan adalah :

- Kn (kontrol negatif/pakan standar tidak diinfeksi)
- Kp (kontrol positif /pakan standar diinfeksi dengan *A. hydrophila*)
- P1 (ekstrak bawang putih 2,5%) diinfeksi dengan *A. hydrophila*
- P2 (ekstrak bawang putih 5%) diinfeksi dengan *A. hydrophila*
- P3 (ekstrak bawang putih 10%) diinfeksi dengan *A. hydrophila*

Menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan model matematis menurut

Sudjana (1991) adalah sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + \delta_1 + \sum ij$$

Keterangan:

Y_{ijk} = nilai yang diamati pada konsentrasi bawang putih ke-i dan ulangan ke-j

μ = efek nilai tengah atau rata-rata sebenarnya

δ_1 = efek dari konsentrasi bawang putih yang diberikan ke i yang sebenarnya

$\sum ij$ = efek kesalahan pada konsentrasi bawang putih ke-i dan ulangan ke-j

Bahan dan materi penelitian

Sampel bakteri *A. hydrophila* didapat dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, ikan sampel yang digunakan berasal dari sentra pembenihan Cebongan, Cangkringan Yogyakarta dengan ukuran 8-14 cm dan berat ± 25 g sebanyak 50 ekor. Penelitian dilakukan di Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, Laboratorium Fitofarmasetik Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

Bawang putih yang digunakan adalah bawang putih kathing jenis lumbu hijau yang diperoleh dari pasar di Wonosobo, Jawa Tengah Sedangkan pakan yang digunakan ikan produksi PT. Central Panganpertiwi 781-2 dengan kandungan

protein 31 – 33 %, lemak 3 – 5 %, serat 4 – 5 %, abu 5 – 8 % dan kadar air 11 – 13 %.

Untuk kultur bakteri digunakan berbagai jenis media agar seperti TSA (*Tryptic Soy Agar*); TSB (*Tryptic Soy Broth*); GSP (*Pseudomonas Aeromonas Selective Agar*); soft agar; PBS (*Phosphate Buffer Saline*); Aquades; Aquabides ; alkohol, ethanol 70 %; seperangkat zat untuk mengukur kualitas air.

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah akuarium ukuran 40 cm x 20 cm x 30 cm sebanyak 50 buah dan perlengkapan aerasinya, Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (*GC-MS*) QP2010S SHIMADZU.

Jalan penelitian

Sampel Bakteri Aeromonas hydrophila

Aeromonas hydrophila isolat Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UGM diganaskan terlebih dahulu dengan cara direinfeksi kembali pada ikan dengan kepadatan bakteri 10^{10} ; 10^8 dan 10^6 sel/ml hingga LD_{50} tercapai. Ikan yang mati kemudian dibedah, diisolasi kembali bakteri dari organ ginjal dengan cara mengusap cairan yang ada diorgan ginjal dengan menggunakan jarum ose secara aseptik kemudian ditanam pada media selektif GSP, kemudian diinkubasi didalam inkubator dengan suhu $28^{\circ}C$, setelah 24 jam koloni yang tumbuh berwarna kuning diambil 1 koloni kemudian ditanam kembali ke media TSA hingga murni. Setelah didapatkan koloni yang seragam bakteri patogen siap digunakan untuk penelitian.

Identifikasi komponen bahan aktif bawang putih dengan Gas Kromatografi Mass - Spektrofotometri (*GC-MS*)

Bawang putih dikupas dan dicuci bersih ditimbang sebanyak 100 g, kemudian diblender dengan menambahkan 200 ml etanol 70% hingga halus, kemudian dituang ke dalam beaker glass ditutup dengan plastik dan didiamkan selama 24 jam hingga terbentuk campuran etanol-bawang putih. Setelah terbentuk filtrat kemudian diambil sebanyak ± 10 ml untuk kemudian diuji menggunakan GC-MS (Lagnado,2001). Pengamatan komponen sulfida pada ekstrak bawang putih dilakukan dengan Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (*GC-MS*) QP2010S SHIMADZU. Hasil ekstrak etanol bawang putih berupa filtrat dimasukkan ke dalam kolom Rtx-5Ms dengan panjang 30 meter, ID 0,25 mm, dengan gas pembawa helium dan pengionan dengan EI.

Pembuatan pakan yang mengandung ekstrak etanol bawang putih dilakukan dengan cara bawang putih dikupas, dicuci bersih dan dikering-anginkan. Bawang putih diblender basah dengan menambahkan etanol 70% dengan perbandingan 1 : 5 bahan pelarut (1 kg bawang putih ditambah 5 liter etanol 70%), didiamkan selama 5 hari dan sekali-kali dilakukan pengadukan, kemudian disaring menggunakan kertas saring. Filtrat hasil penyaringan kemudian dicampur dengan pakan sesuai dengan dosis perlakuan hingga rata

Berdasarkan penelitian pendahuluan, maka pakan ekstrak bawang putih untuk mencegah penyakit MAS diberikan sebesar 3% dari berat tubuh ikan, karena pakan dengan dosis ekstrak bawang putih di atas 10% dapat membahayakan kelangsungan hidup ikan mas, maka berdasarkan penelitian pendahuluan digunakan dosis ekstrak bawang putih 2,5%, 5% dan 10%/kg pakan. Ikan ditimbang terlebih dahulu, kemudian diletakkan pada wadah pemeliharaan (aquarium) 1 ekor/aquarium, masing masing perlakuan 10 ulangan.

Pemberian pakan dilakukan pada pagi hari antara pukul 07.00-08.00 dan sore hari pada pukul 15.00-16.00, pakan yang tidak dimakan setelah 4 jam diambil, dan juga dilakukan penggantian air sekali sehari sekitar pukul 12.00. Pemberian pakan dilakukan selama 30 hari.

Parameter yang diamati

Persentase ikan mas

Persentase ikan mas yang diberi perlakuan pakan dengan dosis yang berbeda dan diinfeksi dengan *A. hydrophila* dihitung dengan menggunakan rumus yang dikemukakan oleh Effendi (1977) :

$$S = Nt/No \times 100 \%$$

Dimana : S = Sintasan ikan mas/kelangsungan hidup ikan mas (%)

Nt = Jumlah ikan hidup pada akhir penelitian

No = Jumlah ikan hidup pada awal penelitian

Gejala klinis ikan

Pengamatan gejala klinis dilakukan untuk mengetahui tingkah laku ikan selama pemberian pakan mengandung ekstrak bawang putih dan juga setelah ikan diinfeksi *A. hydrophila*

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi komponen bahan aktif bawang putih dengan Gas Kromatografi Spektrometri (GC-MS)

Penggunaan etanol dilakukan agar semua komponen yang ada di dalam bawang putih dapat larut dan bahan aktif banyak terserap. Hasil ekstraksi etanol bawang putih setelah dilakukan pengujian dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan adanya saponin. Sedang untuk kandungan *flavonoid* dan *alkoloid* hasilnya negatif. Skrining fitokimia dengan metode kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa pada perasan bawang putih mengandung senyawa golongan *flavonoid*, saponin, fenol, minyak atsiri dan saponin (Andriyani, 2000).

Kandungan saponin ini sangat membahayakan pada ikan apabila berada di perairan. Saponin adalah jenis glikosida yang banyak ditemukan dalam tumbuhan, dan memiliki karakteristik berupa buih. Sehingga ketika direaksikan dengan air dan dikocok maka akan terbentuk buih yang dapat bertahan lama. Saponin mudah larut dalam air dan tidak larut dalam eter, memiliki rasa pahit, menusuk dan menyebabkan bersin serta iritasi pada selaput lendir. Saponin merupakan racun yang dapat menghancurkan butir darah dan sering menyebabkan hemolisis sel darah merah. Dalam larutan yang sangat encer saponin sangat beracun untuk hewan berdarah dingin seperti ikan (Robinson, 1991).

Identifikasi kandungan utama yang terdapat dalam ekstrak etanol bawang putih yang dilakukan dengan Gas Kromatografi Spektrofotometri (GC-MS) yang terdeteksi sebanyak 13 komponen akan tetapi yang dominan hanya ada 5 yaitu : 1. $C_5H_4O_2$ (2-Furancarboxaldehyde) (CAS); 2. $H_2C=CHCH_2Br$ (1-Propene, 3-bromo- (CAS) Allyl Bromide) ; 3. $C_6H_{10}S_2$ CAS Disulphide, di-2-propenyl (CAS)/Diallyl disulphide; 4. $C_6H_8O_4$ CAS (4H-Pyran-4 one, 2,3-dihydro-3-5 dihydroxy-6-methyl- (CAS) dan 5. $C_6H_6O_3$ CAS (2-Furancarboxaldehyde) (Tabel 1).

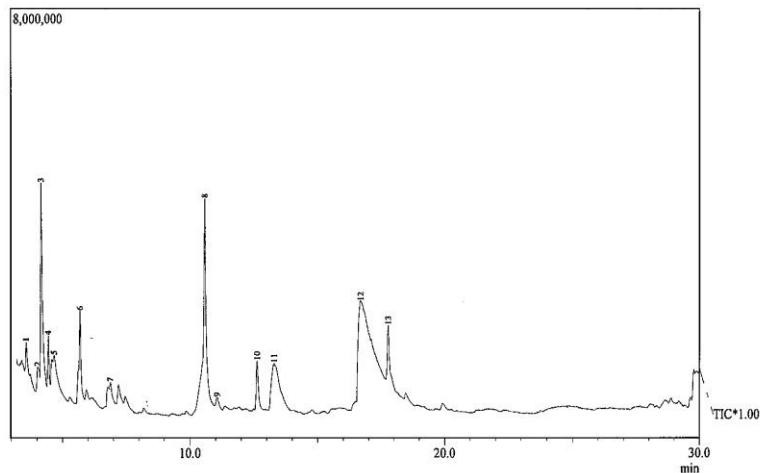
Dari kromatogram terlihat bahwa kandungan ekstrak bawang putih yang dominan hanya beberapa jenis yang terbaca, yang tertinggi terletak pada area line 3 yaitu senyawa 2-furancarboxaldehyde ($C_5H_4O_2$) sebesar 10,29 %; line 8 yaitu senyawa Disulphide, di-2-propenyl (Diallyl disulphide) ($C_6H_{10}S_2$) dengan area 16,95 %, sedang senyawa-senyawa yang lainnya adalah pada line 6 senyawa 1-Propene, 3-bromo-(CAS) Allyl Bromide ($H_2C=CHCH_2Br$) dengan area 5,11 %; line 11 yaitu senyawa 4H-Pyran-4 one, 2,3-dihydroxy- 6 methyl-(CAS) ($C_6H_8O_4$) dengan area 9,94 % dan line 12 yaitu senyawa 2- Furancarboxaldehyde, 5-(hydroxymethyl) ($C_6H_6O_3$) dengan area 36,08 %. Hasil GC-MS terdeteksi adanya komponen sulfida dengan area 16,95 %, setelah dicocokkan dengan hit list, menunjukkan bahwa komponen sulfida yang muncul adalah dialil disulfida dan mempunyai rumus

molekul $C_6H_{10}S_2$. Komponen utama ekstrak etanol bawang putih Kating dapat dilihat pada Tabel 1.

Tidak munculnya sulfida yang lain dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain kemungkinan pelarut yang digunakan sudah mengalami penguapan sehingga tidak dapat mengikat kuat komponen komponen sulfida yang lain, suhu yang tidak stabil juga dapat mengakibatkan komponen komponen sulfida terdegradasi menjadi komponen bentuk lain, tidak segera melakukan uji identifikasi juga memungkinkan larutan hasil ekstraksi menjadi rusak atau terdegradasi dan terurai menjadi komponen lain sebelum dilakukan identifikasi. Hasil GC-MS chromatogram ekstrak etanol bawang putih Kating dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 1. Hasil pengamatan GC-MS Komponen utama ekstrak etanol bawang putih Kating

Retention Time (Min)	Komposisi	Area %
4.139	2-Furancarboxaldehyde (CAS) ($C_5H_4O_2$)	10,29
5.671	1-Propene, 3- bromo- (CAS) Allyl bromide ($H_2C\ CHCH_2Br$)	5,11
10.567	Disulphide,di-2- propenyl (CAS)/ Diallyl disulphide ($C_6H_{10}S_2$)	16,95
13.287	4H-Pyran-4-one,2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-(CAS) ($C_6H_8O_4$)	9,94
16.665	2-Furancarboxaldehyde ($C_6H_6O_3$)	36,08
Total		78,37



Gambar 1. GC-MS kromatogram ekstrak etanol bawang putih Kating.

Di dalam bawang putih kandungan *dialil disulfida* sebesar 60% dan dialil trisulfida sebesar 20% dan sisanya adalah sulfur (Blackwood dan Fulder, 1986).

Allisin (*diallyl thiosulphinate*) terbentuk dari *allin* yang bereaksi dengan *alinase* dan termetabolisme dengan cepat menjadi *diallyl sulphide*, *diallyl disulphide*, *diallyl trisulphide*, *ajone*, *S-allyl mercaptocysteine*, *S-allyl cysteine* dan *dithiines*. Kebanyakan efek biologi dari *allisin* adalah sebagai antimikrobia yang berhubungan kuat dengan *SH* dan juga sebagai antioksidan (Lowson, 1998). Aktivitas antimikroba dari bawang putih tergantung dari jumlah atom sulfur. Dari senyawa senyawa sulfida yang paling aktif sebagai antimikroba adalah *diallyl tetrasulphide* dan kekuatannya empat kali dari *diallyl trisulphide*, sedangkan hasil MIC *allisin* terhadap beberapa bakteri kekuatan daya antimikrobanya sama dengan *diallyl tetrasulphide* (Münchberg dkk., 2007).

Dari senyawa-senyawa yang aktif di atas yang masih dapat berperan dalam membunuh bakteri adalah senyawa *di sulphide*, *di-2-propenyl* (*dialil disulfida*) ($C_6H_{10}S_2$) dimana senyawa tersebut walaupun telah diekstrak dan disimpan dalam waktu 10 hari masih ada, sedangkan sulfida-sulfida yang lain tidak terdeteksi mungkin sebagian telah mengalami penguapan (*folatil*). Blackwood dan Fulder (1986) menyatakan bahwa bawang putih memiliki kandungan *dialil disulfida* dan *dialil trisulfida*, disamping dua kandungan utama tersebut juga menghasilkan semua tingkat dan jenis sulfida, *disulfida* dan *trisulfida* lain seperti *methyl allyl trisulphide*, *thiol* (*methanethiol*) serta senyawa lainnya. Robinson (1991) juga mengatakan bahwa bawang putih mengandung turunan *alill* sebagai komponen baurasa paling khas, berbagai *disulfida* bekerja sebagai antibiotika, nematisida, insektisida dan menghambat enzim. Kandungan asli yang menimbulkan senyawa beraroma khas dari bawang putih jika tumbuhan itu diremuk adalah *S-alkil* dan *S-alkenil sisteina sulfoksida* yang terbentuk dari *S-(2-karboksialkil)-sisteina*. *Allisin* akan terurai bila dipanaskan membentuk berbagai hasil uraian termasuk *disulfida*, *trisulfida* dan senyawa yang lebih rumit seperti *ajone*. Sulfoksida menarik perhatian karena aktivitas antibiotiknya, disamping itu *allisin* mempunyai kerja bakterisida dan juga menghambat beberapa enzim secara *in vitro*. *Allisin* dalam dosis yang tinggi dapat menjadi racun bagi sel dan menyebabkan rasa panas pada kulit atau gangguan pada usus (Liu, 2006). Konsentrasi *dialil disulfida* akan mengalami penurunan yang signifikan bila dipanaskan pada suhu $180^{\circ}C$ selama 10 menit (Shin dkk., 2002).

Jumlah unsur pokok aktif (*alliin* dan sulfur) yang ada pada bawang putih tidaklah konstan, melainkan dinamis dan sangat tergantung pada lokasi dan metode pengolahannya, disamping itu tempat dimana bawang putih tersebut ditanam. Perbedaan kandungan sulfur pada bawang putih menjadi sangat penting, karena jumlah sulfur sangat menentukan tingkat aromanya yang berarti pula menjadi ukuran tinggi rendahnya mutu /khasiat dari bawang putih, sedangkan bentuk dan ukuran tidak bisa dijadikan patokan untuk menentukan jumlah kandungan sulfur (Blackwood dan Fulder, 1986).

Kandungan berbagai bahan kimia lainnya tidak dapat terbaca karena dalam persentasi kecil. Senyawa yang terdapat dalam ekstrak bawang putih tersebut masih aktif dan tidak membahayakan bagi ikan bila diberikan tidak berlebihan. Santoso (1992) menyatakan bila tanaman diekstraksi kemudian dilanjutkan pemisahan dan pemurnian, zat yang aktif yang diperoleh dapat meningkat aktivitasnya dan juga dapat berkurang dan masing-masing fraksi zat berkhasiat tidak aktif secara tersendiri dan bila bergabung baru memperlihatkan efek yang nyata. Untuk keamanan ikan dan tidak membahayakan bagi kelangsungan hidup ikan budidaya, maka pemberian pakan yang diberikan kurang 10% , dosis yang dianjurkan dapat diberikan sebesar 2,5-10%/ kg pakan dan diberikan sebanyak 3% dari berat tubuh ikan.

Persentase ikan mas (C. carpio L) yang hidup setelah diinfeksi A. hydrophila

Pemberian pakan yang mengandung ekstrak bawang putih dengan dosis yang berbeda tidak berpengaruh nyata terhadap kontrol. Ikan dapat menerima pakan tersebut dengan kurun waktu sekitar 7 hari. Persentase ikan hidup yang diberi perlakuan pakan mengandung ekstrak bawang putih Kating selama 1 bulan, kemudian diinfeksi dengan *A. hydrophila* dengan kepadatan 10^7 sel/ml secara intramuskuler dengan dosis 0,1 ml/ekor mengalami penurunan, disebabkan karena isolat *A. hydrophila* yang digunakan lebih virulen yang merupakan bakteri koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada.

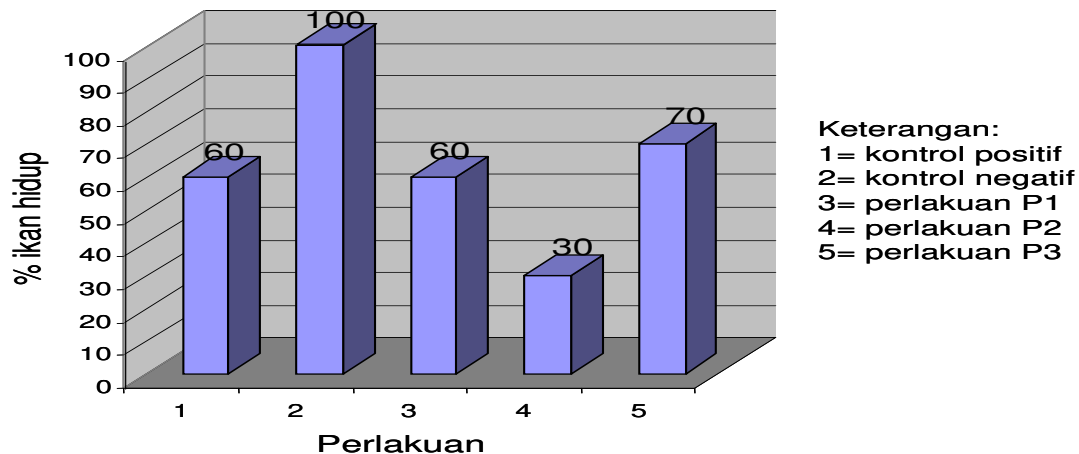
Persentase ikan tertinggi setelah diinfeksi dengan *A. hydrophila* terlihat pada perlakuan P3 sebesar 70%, diikuti dengan perlakuan P1 60%, Kp 60% dan P2 30%. Persentase kehidupan ikan yang diberi perlakuan pakan yang mengandung ekstrak bawang putih Kating dapat dilihat pada Gambar 2.

Dari diagram diatas menunjukkan bahwa pemberian pakan yang mengandung ekstrak bawang putih meningkatkan persentase kehidupan ikan. Pada perlakuan P3 persentase nya lebih tinggi dibanding dengan kontrol (Kp). Hal ini disebabkan karena isolat *A. hydrophila* yang digunakan (koleksi FKH-UGM) lebih patogen (LD_{50} *A. hydrophila* isolat FKH terhadap ikan mas kepadatan bakterinya sebesar $3,1 \times 10^5$ sel/ml Disamping itu juga pembuatan pakan yang mengandung ekstrak bawang putih dilakukan dengan proses pemanasan, sehingga sebagian bahan aktifnya berkurang. Hal tersebut terlihat pada pengujian GC-MS, dimana sebagian bahan aktifnya tidak teridentifikasi, dan yang berperan hanya *diallyl disulfide* ($C_6H_{10}S_2$) yang terletak dengan area 16,95%. Elnima dkk. (1983) menyatakan bahwa bawang putih dalam bentuk ekstrak tidak menunjukkan aktivitas antimikroba secara signifikan. Akan tetapi pemberian ekstrak bawang putih yang dicampur pakan pada perlakuan P3 setelah diinfeksi *A. hydrophila* secara intramuskuler dengan kepadatan 10^6 sel/ml dengan dosis 0,1 ml/ekor sudah dapat meningkatkan persentase kehidupan ikan perlakuan hingga mencapai 70%. Salah satu metode untuk mengetahui efektivitas

adalah dengan melihat jumlah organisme virulen yang dapat membunuh 50% hewan uji (Ellis, 1988), pada perlakuan P3 menunjukkan pemberian ekstrak bawang putih yang dicampur pada pakan efektif meningkatkan persentase kehidupan ikan. Hal tersebut tidak jauh berbeda dengan penelitian yang dilakukan Shalaby dkk. (2006) yang memberikan pakan yang diberi campuran bawang putih dalam bentuk (*Freeze drier*) dengan dosis 30 g/kg pakan diberikan selama 3 bulan mampu meningkatkan sintasan ikan Tilapia (*Oreochromis niloticus*) sebesar 100%, akan tetapi setelah dilakukan uji tantang dengan bakteri *A. hydrophila* secara intraperitoneal dengan kepadatan bakteri 10^7 sel/ml, dosis 0,5 ml/ekor sintasan ikan nila 70%. Sedangkan penelitian Sahu dkk. (2007) menggunakan ikan *Labeo rohita* ukuran ± 2 g yang diberi pakan campuran bawang putih yang dioven 60^0C kemudian dibuat serbuk dengan dosis 1 g/kg pakan dan 5 g/kg pakan diberikan selama 60 hari, mampu meningkatkan sintasan ikan sebesar 85% setelah diinfeksi dengan *A. hydrophila* secara intraperitoneal dengan kepadatan bakteri 10^5 sel/ml. Dari penelitian penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ketahanan ikan tergantung dari jenis ikan (spesies ikan) dan faktor fisiologis/genetik.

Ikan dapat bertahan hidup karena pertahanan non spesifiknya meningkat yang ditunjang dengan parameter pemeriksaan darah, hal ini sesuai dengan pendapat Waluyo (2001); Anonim (2008) yang mengatakan bahwa senyawa yang terdapat di dalam bawang putih selain *allisin* juga terdapat senyawa scordinin yang berperan dalam memberikan kekuatan dan pertumbuhan tubuh. *Scordinin* diberikan pada anak tikus menyebabkan anak tikus tersebut mampu berenang 3 kali lebih lama dibanding tikus yang tidak diberi senyawa ini.

Sejumlah laporan telah disampaikan di International Convention di California yang menyatakan bahwa selain alisin yang merupakan antimikroba, dan senyawa lain yang efektif dari bawang putih adalah belerang-cysteine (scordinin) senyawa tersebut ditemukan oleh Kominato. Scordinin memiliki gizi dan efek anti kelelahan, memiliki efek mencegah kanker dan meningkatkan sistem kekebalan tubuh. (Anonim 2009).



Gambar 2. Persentase kehidupan ikan yang diberi perlakuan pakan mengandung ekstrak bawang putih Kating kemudian diinfeksi *A. hydrophila*.

Keterangan :

- Kp = Kontrol positif (ikan yang diberi pakan standar, kemudian diinfeksi *A. hydrophila*)
 Kn = Kontrol negatif (ikan yang diberi pakan standar)
 P1 = Ikan yang diberi pakan mengandung ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 2,5%/kg pakan diinfeksi *A. hydrophila*
 P2 = Ikan yang diberi pakan mengandung ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 5%/kg pakan, diinfeksi *A. hydrophila*
 P3 = Ikan yang diberi pakan mengandung ekstrak bawang putih dengan konsentrasi 10%/kg pakan, diinfeksi *A. hydrophil*

Sedangkan pada ikan kontrol yang dapat bertahan hidup selama penelitian disebabkan karena adanya kekebalan bawaan dari ikan itu sendiri, hal ini sesuai dengan pendapat Austin dan Austin (1987) yang menyatakan bahwa ikan yang terinfeksi *A. hydrophila* yang bertahan hidup memiliki titer serum yang tinggi dari antibodi seperti IgM.

Gejala klinis ikan mas (C. carpio L) setelah diinfeksi A. hydrophil

Setelah penginfeksi dengan bakteri *A. hydrophila*, gejala klinis yang timbul pada ikan kontrol maupun ikan perlakuan menunjukkan adanya hiperemi (kemerahan) setelah 4 jam di daerah bekas suntikan, peradangan (inflamasi) terjadi setelah 9 jam. Hari ke dua setelah penyuntikan, di bagian tempat penyuntikan (intramuskuler) terjadi nekrosis dan ulser (tukak) semakin melebar dan bertambah dalam, pergerakan ikan menjadi lamban bahkan diam dan ikan yang tidak dapat

bertahan mengalami kematian. Gejala tersebut merupakan manifestasi klinis *A. hydrophila* (Newman, 1982).

Kemerahan kulit atau hiperemi merupakan tanda klinis yang pertama kali timbul setelah penginfeksi, *A. hydrophila* dapat mengenali dan berikatan dengan sel reseptor pada sel-sel tertentu dan mengurai sel inang dengan memproduksi enzim-enzim ekstraseluler seperti hemolisin, protease dan elastase sehingga menyebabkan inflamasi, peradangan dan berkembang menjadi borok. Hiperemi merupakan respon awal terhadap infeksi mikrobial, kemudian diikuti dengan terjadinya peradangan, nekrosis dan terbentuknya tukak (Plum, 1994). Hiperemi ini terjadi karena mobilitas eritrosit ke jaringan tempat berkembangnya patogen, leukosit yang merupakan salah satu komponen sel darah yang berfungsi sebagai pertahanan non spesifik akan melokalisasi dan mengeliminasi patogen. Eliminasi ini dilakukan melalui proses fagositosis (Fletcher, 1982; Walczak, 1985; Anderson, 1992).

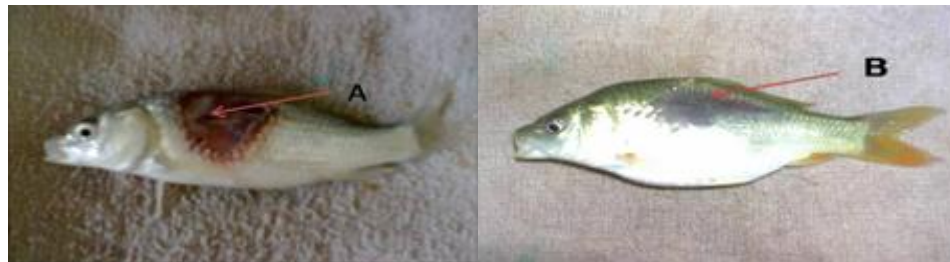
Suzuki dan Iida (1992), menyatakan ada tiga tahapan utama dalam reaksi peradangan (*inflammatory response*), pertama terjadi peningkatan suplai darah ke daerah sekitar luka/terinfeksi, kemudian diikuti dengan bertambahnya sifat permeabilitas pipa kapiler tubuh dan kemudian terjadi proses migrasi leukosit yang keluar dan masuk ke dalam jaringan secara merata. Di dalam jaringan, leukosit bergerak menuju tempat infeksi untuk menghadapi patogen yang berhasil masuk dengan cara mengaktifkan potensi pembunuh bakteri, sehingga membatasi penyebaran atau mematikan patogen tersebut. Reaksi peradangan juga merupakan reaksi untuk mempertahankan diri pada daerah luka/infeksi. Pada reaksi peradangan terjadi penurunan jumlah leukosit yang dimungkinkan karena sel-sel tersebut bermigrasi atau juga lisis. Pelepasan enzim intraseluler merupakan suatu konsekuensi dari sel fagosit yang lisis sehingga akan merugikan patogen dan bahkan diperkirakan sel neutrofil secara aktif mengeluarkan enzim ekstraselulernya sebagai suatu mekanisme membunuh patogen. Enzim ekstraseluler seperti hemolisin, protease dan elastase yang diduga sebagai faktor virulen dapat merusak jaringan tubuh ikan sehingga menimbulkan hemoragik yang biasa terjadi akibat adanya infeksi bakteri (Ellis, 1986).

Pada hari ke dua dan hari ke tiga pasca infeksi ikan dengan sistem kekebalan yang rendah mengalami kematian baik terjadi pada ikan kontrol maupun ikan perlakuan, dengan ditandai di bagian bekas penyuntikan intramusculer terdapat ulser yang dalam, dan ada sebagian ikan yang otot dagingnya lepas ke wadah pemeliharaan dan air dimana tempat ikan tersebut dipelihara berwarna keruh, lepasnya otot daging tersebut hingga menyebabkan terlihatnya gambaran susunan vertebrae (Gambar 3 A).

Ulser (tukak) yang terbentuk karena aktivitas proteolitik dari bakteri, dimana keadaan ini mungkin dikarenakan adanya substansi produk ekstraseluler bakteri seperti protease dan sitokin yang menghidrolisis dan melisiskan jaringan inang

(Newman, 1982). Terbentuknya tukak tersebut melalui tahapan hiperemi, peradangan nekrosis dan tukak (Plumb, 1994).

Aeromonas hydrophila merupakan bakteri patogen oportunistik yang dapat menyebabkan kematian tinggi pada ikan-ikan budidaya, hal ini dimungkinkan oleh sifat virulennya yang diakibatkan oleh produk ekstraselulernya seperti endotoksin, sitotoksin, hemolisin dan protease (Yusoff dan Subangsihe, 1995). Kematian ikan uji membuktikan bahwa ikan tersebut tidak terjadi stimulasi imunologik untuk merespon masuknya patogen dan menghambat perkembangan infeksi. Setelah dilakukan reisolasi bakteri dari ikan yang telah mati kemudian di tumbuhkan pada media agar (agar selektif GSP), mengindikasikan bahwa bakteri tersebut adalah *A. hydrophila*.



Gambar 3. Gejala klinis ikan yang diinfeksi *A. hydrophila* secara intramuskuler A). luka bekas suntikan yang melebar akibat infeksi *A. hydrophila* hingga tulang vertebranya terlihat dengan jelas, B). luka bekas suntikan menutup setelah pasca penyuntikan 14 hari.

Pada ikan yang diberi perlakuan maupun sebagian ikan kontrol yang mempunyai sistim kekebalan yang tinggi bertahan hidup, ulser berangsur-angsur mulai membaik, tanda-tanda luka bekas penyuntikan tersebut kemudian terlihat mengecil, hal ini sesuai dengan pendapat Frandson (1992) yang menyatakan bahwa fibrinogen keluar dari pembuluh dan menyebabkan timbulnya koagulasi pada jaringan yang membantu dalam membuat barier terhadap menyebarnya unsur-unsur infeksi sehingga membangun dinding untuk wilayah yang sedang mengalami kerusakan. Setelah 7 hari pasca penyuntikan, luka bekas suntikan mulai terlihat mengecil dan setelah 14 hari pasca penyuntikan luka bekas suntikan menutup /sembuh (Gambar 3 B).

KESIMPULAN

Ekstrak bawang putih sebelum dicampurkan pada pakan diidentifikasi komponen bahan aktifnya dengan Gas Kromatografi Spektrometri (GC-MS) mengandung zat aktif $C_6H_{10}S_2$ (*dialil disulfida*) yang bersifat antibakteri dengan area 16,95 %. Hasil uji KLT ekstrak bawang putih kating masih mengandung zat saponin.

Pemberian pakan yang mengandung ekstrak bawang putih Kating dengan dosis 10%/kg dapat meningkatkan sintasan ikan sebesar 70%. Luka bekas suntikan pada ikan yang diberi perlakuan pakan yang mengandung ekstrak bawang putih Kating menutup setelah 14 hari pasca penyuntikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Anderson, D.P. 1992. Immunostimulant, Adjuvant and Vaccine Carrier in Fish : Application to Aquaculture. *Annual Review of Fish Diseases* 21 : 281-307.
- Andriyani, N. 2000. Efek Anthelmintika in vitro dari Perasan Umbi Lapis *Allium sativum* L Serta Skrining Fitokimianya. *Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada*. Yogyakarta.
- Anonim, 1989. *The Analyst. Garlic*. <http://www.digitalnaturopath.com/treat/T22977.html>, diakses tgl 7 Maret 2008.
- Anonim, 1990. *Kerugian Ekonomis Akibat Penyakit Ikan dan Upaya Penanggulangannya*. Prosiding Seminar Nasional II Penyakit Ikan dan Udang, Balai Perikanan Air Tawar. Direktorat Bina Sumber Hayati dan Direktorat Jendral Perikanan. Hal. 191-196.
- Anonim, 2008. *Khasiat Bawang Putih*. <http://bwlg.multiply.com/journal>. Diakses Februari 2009.
- Anonim, 2009. *Musshulic, a naturally odorless-type garlic of a size 8 – fold and an odor 1/14 that of common garlic with odor*. <http://www.healthway.co.jp/garic8-e.htm>, diakses Februari 2009.
- Austin, B. and D.A. Austin. 1987. *Bacterial Fish Pathogens. Disease In Farmed and Wild Fish*. Second Edition New York. 364 p.
- Blackwood, J. and S. Fulder. 1986. *Garlic: Nature`s Original Remedy*. Javelin Books. Poole Dorset. Typeset by Colset Pte Ltd, Singapore. 126 p.
- Challem, J. 1995. *The Wonders of Garlic* [http :// www.thenutritionreporter.com](http://www.thenutritionreporter.com), diakses Februari 2007.
- Effendie, M.I.1977. *Biologi Perikanan*. Yayasan Pustaka Nusantara, Yogyakarta. 163 hal.

- Ellis, A.E. 1986. The Function of Teleost fish Lymphocytes in relation to inflammation. *International Journal Tissue Reaction* 8 : 263-160.
- Ellis, A.E. 1988. *General Principles of Fish vaccination* In: Fish vaccination . A.E. Ellis (Eds) Academic Press Limited. San Diego-USA. 255 p.
- Elnima, E.I., S.A. Ahmed, A.G. Mekkawi and J.S. Mossa. 1983. The Antimicrobial Activity of Garlic and Onion Extracts. *Pharmazie*. 38: 747-748.
- Fletcher, T.C. 1982. Non-specific Defence Mechanisms of Fish. *Developmental and Comparative Immunology*. 2 : 123-132.
- Frandsen, R.D. 1992. *Anatomi dan Fisiologi Ternak*. Edisi ke 4, Alih Bahasa oleh Sigandono, B dan Praseno, K., (Judul Asli : *Anatomy and Physiology of Farm Animals*). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. Hal 356,434-436,366,507,525.
- Hinton, D.M., M. J. Meyers, R.A. Rayborner, S. Francke-Carrol, R.E. Sotomayor, J. Shaddock, A. Warbritton and M.W. Chou. 2003. Immunotoxicity of Aflatoxin B1 in Rats : Effects on Lymphocytes and the Inflammatory Response in a Chronic Intermittent Dosing Study. *Toxicology Sciences*. 73 : 362-377.
- Lamm, D.L. and D.R. Riggs. 2001. Enhanced Immunocompetence by Garlic : Role in Bladder Cancer and Other Malignancies. *Journal Nutrition*. 131 : 1067S-70S.
- Liu, B.M.D. 2006. *Terapi Bawang Putih*. Prestasi Pustaka Publisher. Jakarta. 243 hal.
- Lowson, L. D. 1998. *Effect of Garlic on Serum Lipids* (Letter : comment). *Jama* 1998; 80 : 1568
- Maryono, A. Puspitasari dan Sutomo. 1999. *Aeromona hydrophyla*. Pengaruh ekstrak bawang putih terhadap kelangsungan hidup benih lele dumbo yang diinfeksi <http://pustaka.bogor.net/publ/bultek/tp6138.htm>, diakses Juni 2004.
- Münchberg, U., A. Anwar, S. Mecklenburg and C. Job. 2007. Polysulfides as biological active ingredient softgarlic. www.rsc.org/obc organic & Biomolecular Chemistry.

- Newman, S. G. 1982. *Aeromonas hydrophila* : A review with emphasis on its role in fish diseases. In: D.P. Anderson, M.Dorson and PH.Dubourget (Eds). *Les Antigens des Microorganismes pathogenes des poisson*. Collection Fondation Marcel Merieux. pp 87-118.
- Plumb, J.A. 1994. *Health Maintenance of Cultured fish*. Principal Microbial Diseases. Ch III Pathology. CRS. Press In Boca Raton. Florida. pp 37- 45.
- Robinson,T. 1991. Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi. Edisi ke enam. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Penerbit ITB, Bandung. Hal 318-322.
- Sahu , S, B.K. Das, B.K.Mishra, J. Pradhan and N. Sarangi. 2007. Effect of *Allium sativum* on the immunity and survival of *Labeo rohita* infected with *Aeromonas hydrphila*. *Journal of Applied Ichthyology* 23 : 80-86.
- Salman, H., M. Bergman, H. Bessler, I. Punskey and M. Djaldetti. 1999. Effect of a Garlic Derivative (*alliin*) on Peripheral Blood Cell Immune Responses. *Int. Journal Immunopharmacology*. 21 : 589-597.
- Santoso, H.S. 1992. *Perspektif Pengembangan Obat Tradisional Di Indonesia*. Dalam : Etik Penelitian Obat Tradisional. Perangkum dan Editor Tjokronegoro, A, dan Baziad, A. 1992. Semiloka Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta. 98 hal.
- Shalaby, A.M., Y.A.Khattab and A.A.M.Rahman.2006. Effects of Garlic (*Allium sativum*) and Chloramphenicol on Growth Performance, Physiological Parameters and Survival of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases* 12 (2) : 172- 201.
- Shin.H.S., G.M. Strasburg and Gray.J.I. 2002. A Model System Study of the Inhibition of Heterocyclic Aromatic Amine Formation by Organosulfur Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50 (26): 7684-7690.
- Sujana, M.A. 1995. *Metode Statistika*. Tarsito. Bandung. 493 hal.
- Suzuki, Y. And T. Iida. 1992. Fish granulocytes in proses of inflammation. *Annual Review Fish Diseases* 2 : 149-160.

- Triyanto, 1990. Patogenitas Beberapa Isolat *Aeromonas hydrophila* Terhadap Ikan Lele (*Clarias batrachus* L). Prossiding Seminar II Penyakit Ikan dan Udang. Balai Penelitian Perikanan Air Tawar, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Hal. 116-122.
- Walczak, B.Z. 1985. Immune Capability of Fish. A Literature Review. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences*. 1334 : 1-33.
- Waluyo,B., 2001. *Bawang Putih Sang Penguat Tubuh* .
[Http://www.gemari.or.id/artikel/697.shtml](http://www.gemari.or.id/artikel/697.shtml) , diakses Februari 2009.
- Watanabe, T. 2001. *Garlic Therapy*. Alih bahasa Sumintadiredja : Penyembuhan dengan Terapi Bawang Putih. Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 103 hal.
- Wibowo, S. 1989. *Budidaya Bawang Putih, Bawang Merah, dan Bawang Bombay*. Penebar Swadaya, Jakarta 194 hal.
- Yusoff, F.M. and R.P. Subangsihe. 1995. Histopatology *Aeromonas hydrophila* infection in *Puntius gonionotus* to different nitrit concentration. In : M. Sharif, J.R.Artur and R.P. Subangsihe (Eds). *Diseases in Asian Aquaculture II. Proceeding of second Symposium on Diseases in Asian Aquaculture. 25 - 29 th October 1993. Asian Fisheries Society. Manila*.pp 275-284.